

Sektion 15

Forst und Wald II

15-1 - Ringfleckigkeit an Flatterulme – Untersuchung assoziierter Pathogene

Ringspots on European white elm – analysis of associated pathogens

Anne-Mareen Eisold, Markus Rott, Susanne von Bargaen, Martina Bandte, Carmen Büttner

Humboldt-Universität zu Berlin, Lebenswissenschaftliche Fakultät, Albrecht Daniel Thaer-Institut für Agrar- und Gartenbauwissenschaften, Fachgebiet Phytomedizin Lentzeallee 55/57, 14195 Berlin, Deutschland, phytomedizin@agrar.hu-berlin.de

Seit dem Jahr 2000 werden ca. 150-jährige Flatterulmen (*Ulmus laevis* Pall.) im Schlosspark Caputh regelmäßig untersucht. Von 30 bonitierten Ulmen weisen 16 Bäume regelmäßig virustypische Symptome wie Blattscheckungen, chlorotische Blattflecken, Mosaik und Ringflecken auf. In Voruntersuchungen konnten Faktoren wie pilzliche und bakterielle Pathogene als Verursacher der Symptome ausgeschlossen werden. Mittels Elektronenmikroskopie wurden flexible Partikel mit einer Länge von ca. 800 nm detektiert. Potyviren wurden bereits durch DAS-ELISA sowie RT-PCR mit Potyvirus-spezifischen Primern ausgeschlossen (Bandte et al. 2004).

Ziel dieser Arbeit ist die Identifizierung viraler Pathogene, die mit der Erkrankung assoziiert sind.

Krautige Biotestpflanzen (*Chenopodium quinoa* Willd.) wurden mit homogenisierten Knospen erkrankter Flatterulmen inokuliert und zeigten daraufhin virustypische Symptome wie Chlorosen, Nekrosen und Wuchsdepressionen. Aus Pflanzenmaterial der inokulierten *C. quinoa* wurden Viruspartikel nach Dijkstra & de Jager (1998) angereichert. Im Transmissionselektronenmikroskop waren in dieser Virusanreicherung sowohl bacilliforme Partikel mit einer Länge von ca. 70 nm, als auch quasi-isometrische Partikel mit einem Durchmesser von etwa 25 nm und filamentöse Partikel mit einer Länge von etwa 350 nm zu erkennen. Aus der Virusanreicherung wurde virale RNA isoliert, eine sequenzunabhängige random (r)PCR nach Froussard et al. (1992) durchgeführt und die generierten Fragmente kloniert und sequenziert. Der Abgleich dieser Sequenzen mit der NCBI Datenbank ergab eine Übereinstimmung mit Sequenzbereichen der RNA1 und RNA3 des *Elm mottle virus* (EMoV). Aus diesen Bereichen wurden spezifische Primer abgeleitet, welche den direkten Nachweis von EMoV in den beprobten Bäumen mittels RT-PCR ermöglichten. Auch aus inokulierten *C. quinoa* isolierte dsRNA entsprach in der Größe dem EMoV Genom. Die Virusanreicherung zeigte ferner in der SDS-PAGE eine zusätzliche Bande, die mit einer molekularen Masse von 25 kDa der Größe des Hüllproteins von EMoV entspricht. Somit können die quasi-ikosaedrischen und bacilliformen Partikel dem EMoV zugeordnet werden.

Um eine Eingruppierung der filamentösen Partikel in das Genus *Carlavirus* zu prüfen, wurde RNA aus Blattmaterial von inokulierten *C. quinoa* und symptomtragenden Flatterulmen isoliert und eine RT-PCR mit Carlavirus-spezifischen Primern durchgeführt. Eine Infektion mit Carlaviren in den untersuchten Ulmen und den inokulierten *C. quinoa* konnte nicht nachgewiesen werden.

Das tripartite Genom des vorliegenden EMoV-Isolates soll nun vollständig charakterisiert werden.

Literatur

BANDTE, M., M. ESSING, C. OBERMEIER, C. BÜTTNER, 2004: Investigations on virus-diseased elm trees (*Ulmus laevis* Pall.) in eastern Germany. Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales **13**, 65-69.

DIJKSTRA, J., C. P. DE JAGER, 1998: Practical plant virology: protocols and exercises. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 238-273.

FROUSSARD P., 1992: A random-PCR method (rPCR) to construct whole cDNA library from low amounts of RNA. Nucleic Acids Research **20**, 2900.

15-2 - Genetische Variabilität von Alder yellows Phytoplasma Stämmen in *Alnus glutinosa* im natürlichen Habitat

*Genetic variability of alder yellows phytoplasma strains in *Alnus glutinosa* in the natural habitat*

Sabine Holz, Bojan Duduk², Jelena Mitrovic², Carmen Büttner, Michael Kube

Humboldt-Universität zu Berlin, Fachgebiet Phytomedizin, Berlin, Deutschland

²Institute of Pesticides and Environmental Protection, Belgrade/Serbia

Alnus glutinosa (Schwarzerle) ist häufig mit Alder yellows Phytoplasma (AldYp) infiziert, wobei 80% der infizierten Bäume keine Phytoplasma-Infektion assoziierten Symptome zeigen und höher kolonisiert sind im Vergleich zu den symptomatischen Bäumen (Lederer and Seemüller 1991, Berges and Seemüller 2002). AldYp gehört zur 16SrV-Gruppe der Phytoplasmen.

In einem natürlichen Habitat (Spreewald, Brandenburg) wurden 58 Bäume im Sommer 2013 untersucht, welche keine mit einer Phytoplasma-Infektion assoziierten Symptome aufwiesen. Die Infektion mit Phytoplasmen der AldYp-Gruppe wurde mittels partieller Amplifikation des rRNA Operons und folgender nested PCR und Sequenzierung ausgewählter Produkte festgestellt. Phytoplasmen der AldYp-Gruppe konnten in allen Proben nachgewiesen werden. 57 von 58 Bäumen konnten mittels RFLP-Analyse unter Verwendung des Enzyms *TaqI* der Gruppe 16SrV-C zugeordnet werden (Lee, Martini et al. 2004). Ein RFLP-Muster zeigt eine Mischinfektion von mindestens zwei AldYp-Stämmen. Eine weitere Analyse des nicht-ribosomalen Markergenes *map* (Methionin-Aminopeptidase) (Arnaud, Malembic-Maher et al. 2007) zeigte eine geringe Variabilität der Stämme sowie weitere Mischinfektionen mit nahe verwandten AldYp-Stämmen auf, die einer genetischen Gruppe in der phylogentischen Analyse zugeordnet werden konnten. In der vorliegenden Studie konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass die weitgehend ohne Symptome verlaufende Phytoplasmainfektion der Schwarzerle nicht nur sehr häufig ist, sondern in allen bisher untersuchten Proben vorliegt (100%) und demnach die Regel darstellt.

Literatur

- ARNAUD, G., S. MALEMBIC-MAHER, P. SALAR, P. BONNET, M. MAIXNER, C. MARCONE, E. BOUDON-PADIEU and X. FOISSAC, 2007: Multilocus sequence typing confirms the close genetic interrelatedness of three distinct flavescence doree phytoplasma strain clusters and group 16SrV phytoplasmas infecting grapevine and alder in Europe. *Appl Environ Microbiol* **73**(12): 4001-4010.
- BERGES, R. and E. SEEMÜLLER, 2002: Impact of phytoplasma infection of common alder (*Alnus glutinosa*) depends on strain virulence. *Forest Pathology* **32**(6): 357-363.
- LEDERER, W. and E. SEEMÜLLER, 1991: Occurrence of mycoplasma-like organisms in diseased and non-symptomatic alder trees (*Alnus* spp.). *European Journal of Forest Pathology* **21**(2): 90-96.
- LEE, I. M., M. MARTINI, C. MARCONE and S. F. ZHU, 2004: Classification of phytoplasma strains in the elm yellows group (16SrV) and proposal of '*Candidatus* Phytoplasma ulmi' for the phytoplasma associated with elm yellows. *Int J Syst Evol Microbiol* **54**(Pt 2): 337-347.

15-3 - Einfluss verschiedener genetischer Typen des *Cryphonectria* Hypovirus 1 (CHV1) aus Europa auf die Virulenz von *Cryphonectria parasitica*

Influence of the genetically different types of *Cryphonectria* Hypovirus 1 (CHV1) found in Europe on the virulence of *Cryphonectria parasitica*

Franziska Peters, Johanna Bußkamp, Aikaterini Nakou, Berthold Metzler

Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg

Cryphonectria parasitica, der Verursacher des Esskastanienrindenkrebses, breitet sich mit zunehmender genetischer Diversität in Südwestdeutschland aus. Bei Hypovirus-Befall des Pathogens ist dessen Virulenz vermindert. In Baden-Württemberg sind etliche mit Hypovirus befallene *C. parasitica* Stämme isoliert worden. Diese Hypoviren unterscheiden sich genetisch deutlich von den in Italien (CHV1_I) und in Frankreich (CHV1_F1 und CHV1_F2) gefundenen Hypoviren (PETERS

et al. 2014). Letztere sind geprägt durch unterschiedliche ökologische Fitness. Das Wachstum und die Sporulation von *C. parasitica* wird durch Infektion mit CHV1_F1 und CHV1_F2 sehr stark eingeschränkt, so dass einzelne Bäume nahezu gesund werden können, das Hypovirus aber nur in eingeschränktem Maße verbreitet wird. Infektion mit CHV1_I dagegen schwächt das Pathogen in der Regel nur so stark, dass die Esskastanien die Krankheit überleben und keine nennenswerten Holzschäden davontragen, eine Verbreitung des Pilzes und damit des Hypovirus aber trotzdem gegeben ist (BRYNER & RIGLING 2011; ROBIN et al. 2010).

Anhand von Infektionsversuchen auf Kastanienstammstücken wurden deutsche Hypoviren mit denen aus Italien und Frankreich verglichen. Außerdem wurden die Läsionen an Kastanienstämmen untersucht, wenn das gleiche Stammstück mit virulenten und hypovirulenten *C. parasitica*-Stämmen inokuliert wurde anstatt mit jeweils nur einer Form des Pathogens. Es konnte eine schnelle Übertragung des Hypovirus auf die virulente Form von *C. parasitica* gezeigt werden. Der Virustyp war der wesentliche Faktor, der die Größe der Läsionen auf einem Stammstück bestimmte. Mit deutschem Hypovirustyp infizierte *C. parasitica*-Stämme verhielten sich dabei ähnlich wie *C. parasitica* Stämme, die mit CHV1_I infiziert waren, dem eine gute ökologische Fitness zugesprochen wird. Dementsprechend wurde eine deutliche Ausbreitung der Hypovirulenz in den Kastanienwäldern Baden-Württembergs beobachtet (PETERS et al. 2014; PETERS et al. 2012).

Literatur

- BRYNER, S. F., D. RIGLING, 2011: Temperature-dependent genotype-by-genotype interaction between a pathogenic fungus and its hyperparasitic virus. *Am. Nat.* **177**, 65-74.
- PETERS, F. S., J. BUBKAMP, S. PROSPERO, D. RIGLING, B. METZLER, 2014: Genetic diversification of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* and its associated hypovirus in Germany. *Fungal Biol.* **118**, 193-210.
- PETERS, F. S., C. L. HOLWEG, D. RIGLING, B. METZLER, 2012: Chestnut blight in south-western Germany: multiple introductions of *Cryphonectria parasitica* and slow hypovirus spread. *Forest Pathol.* **42**, 397-404.
- ROBIN, C., S. LANZ, A. SOUTRENON, D. RIGLING, 2010: Dominance of natural over released biological control agents of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* in south-eastern France is associated with fitness-related traits. *Biol. Control* **53**, 55-61.

15-4 - Einfluss von Trockenstress auf die Schadsymptomatik durch *Verticillium dahliae* bei Bergahorn

Influence of drought stress on infestation with Verticillium dahliae in Sycamore Maple

Nicole Burgdorf, Frank Fleischmann², Markus Blaschke³, Ralf Petercord, Wolfgang Oßwald²

Bayerische Landesanstalt für Wald und Forstwirtschaft, Abteilung Waldschutz, Hans-Carl-von-Carlowitz-Platz 1, 85354 Freising, Deutschland

²Technische Universität München, WZW, Pathologie der Waldbäume, Hans-Carl-von-Carlowitz-Platz 2, 85354 Freising, Deutschland

³Bayerische Landesanstalt für Wald und Forstwirtschaft, Abteilung Biodiversität, Naturschutz, Jagd, Hans-Carl-von-Carlowitz-Platz 1, 85354 Freising, Deutschland

Stammnekrosen an Bergahorn, verursacht durch den bodenbürtigen Pilz *Verticillium dahliae*, wurden in Bayern insbesondere nach dem Trockenjahr 2003 zunehmend beobachtet. *Verticillium dahliae* dringt über die Wurzel in die Wirtspflanze ein, bildet Konidiosporen, die über den Transpirationsstrom über den Stamm und die Äste in die Blätter transportiert werden und durch Ausbildung von Tracheomykosen den Wassertransport unterbinden können. Ein verstärktes Auftreten der Stammschäden nach dem Trockensommer 2003 lässt einen starken Einfluss von Trockenstress auf den Infektionsverlauf durch *Verticillium* vermuten. Im Hinblick auf den prognostizierten Klimawandel und die zunehmende Bedeutung des Bergahorns im Waldbau gilt es, den Einfluss von Trockenstress auf die Schadsymptomatik durch diesen Welke-Erreger zu untersuchen.

Dazu wurde im Rahmen eines Halbfreilandversuchs unter kontrollierten Bedingungen der Trockenstresseinfluss auf mit *Verticillium dahliae* infizierte und gesunde einjährige Bergahorne bei drei verschiedenen Bodenwassergehaltsschemata untersucht. Ab Anfang Juli 2013 wurden in den

infizierten und nicht infizierten Pflanzen die Bodenwassergehalte für sechs Wochen mit Hilfe von Bodenwassergehaltssonden und einer gesteuerten Bewässerungsanlage eingestellt: a) mit guter, b) mit moderater und c) mit geringer Wasserversorgung.

Bereits im Laufe der ersten Vegetationsperiode zeigten die infizierten Pflanzen eine im Vergleich zu den Kontrollpflanzen verstärkte Ausbildung der Welke-Symptome. Diese traten in der gut und moderat bewässerten Variante der infizierten Ahorne verstärkt auf, wohingegen stärkere Welke-Symptome in den gesunden Pflanzen nur in der Trockenstressvariante zu beobachten waren. Die extremste Welke-Symptomatik war in den infizierten Bergahornen unter Trockenstress zu beobachten. Besonders deutlich wurde der Einfluss des Welke-Erregers *Verticillium dahliae* durch die signifikant reduzierte Photosyntheserate und stomatäre Leitfähigkeit in den infizierten Pflanzen. Beide nehmen bei allen Pflanzen mit sinkendem Bodenwassergehalt ab, wobei die verminderte Photosynthese in der infizierten Variante unter Trockenstress am niedrigsten ausgeprägt ist. Die Ergebnisse bestätigen den verstärkenden Einfluss von Trockenstress auf die Ausprägung von Blattwelke-Symptomen und die Verminderung der Photosyntheserate bei Infektion mit *Verticillium dahliae* an jungem Bergahorn unter kontrollierten Bedingungen.

15-5 - *Diplodia*-Triebsterben an Koniferen in klimasensiblen Regionen Deutschlands

Diplodia-Dieback of Conifers in climate-change-sensitive regions of Germany

Gitta Jutta Langer

Nordwestdeutsche Forstliche Versuchsanstalt, Abteilung Waldschutz, Göttingen

Das *Diplodia*-Triebsterben an Koniferen ist eine weltweit verbreitete Erkrankung. Sie wird hervorgerufen durch den wärmeliebenden Schlauchpilz *Sphaeropsis sapinea* (syn. *Diplodia pinea*). Es wird davon ausgegangen, dass es sich hierbei um einen vom Klimawandel profitierenden Schaderreger handelt, da ein vermehrtes und teils flächiges Auftreten in klimasensitiven Gebieten des nordwest- und nordostdeutschen Tieflands sowie in Südhessen beobachtet wird. So kam es 2010 in der Colbitz-Letzlinger Heide (Sachsen-Anhalt) nach einem starken Fraß der Kiefernbuschhornblattwespe (*Diprion pini*) zum Absterben ganzer Kiefernbestände durch diesen Pilz und nachfolgendem Abtrieb (LANGER et al. 2011). Begünstigt wird die Erkrankung durch Vitalitätsverluste oder Vorschädigungen (z. B. Insektenfraß oder Hagelschlag) der Wirtsbäume (LANGER et al. 2011). *S. sapinea* kann sowohl endophytisch, parasitisch als auch saprophytisch wachsen (LANGER et al. 2011). In seiner parasitischen Lebensphase führt dieser Pilz zu Rindenschäden, Absterben und Verbraunen der Triebspitzen, Wipfeldürre und bei sehr starker Schädigung schließlich zum Absterben des Baumes. Die Erkrankung kann ausbrechen, wenn der zunächst endophytisch lebende Pilz in seine parasitische Phase übergeht oder wenn er geschwächte / geschädigte Wirtsbäume neu infiziert. Dazu können unterschiedliche Faktoren führen, wie z. B. Insektenfraß, Mistel-Befall, Hagelschlag oder allgemeine Vitalitätsverluste. Potentiell auslösende Faktoren wurden in unterschiedlichen klimasensiblen Kiefernbeständen mit *Diplodia*-Triebsterben ermittelt und sind auch Gegenstand unseres vom Waldklimafond geförderten WAHYKLAS-Teilprojekts.

In Kiefernbeständen der Colbitz-Letzlinger Heide (Sachsen-Anhalt) ist das *Diplodia*-Triebsterben weiterhin ein ernst zunehmender Schadfaktor, der sich örtlich infolge der Niederschlagsdefizite und erhöhten Temperaturen im Frühjahr und Frühsommer 2014 verstärkte. Auch in den mit Kiefern wieder aufgeforsteten Abtriebsflächen der Kiefernbuschhornblattwespen-Fraßgebiete von 2009 starben derzeit Jungpflanzen infolge *Diplodia*-Befalls.

In Gartow-Prezelle (Niedersachsen) gab es in 2013 eine Massenvermehrung des Kiefernspinners (*Dendrolimus pini*) und entsprechenden Fraß. Aktuelle Untersuchungen belegen hier ein endophytisches Vorkommen von *Sphaeropsis sapinea* und *Diplodia*-Triebsterben der Kiefer in / an den betroffenen Kiefern.

Im Raum Wetzlar (Hessen) wurden im Herbst 2013 und im Frühjahr 2014 verstärkte Absterbeerscheinungen an ca. 140j Waldkiefern (*Pinus sylvestris*) durch *Diplodia*-Triebsterben infolge von Niederschlagsdefiziten beobachtet, die mit einem starken Hallimasch-Befall assoziiert waren. In der südhessischen, klimasensiblen Region um Pfungstadt wurden *Diplodia*-Schäden an Kiefern-Baumhölzern festgestellt. Teilweise waren die Kronenschäden hier auch durch Waldgärtner-Fraß (*Tomicus* sp.) verstärkt. Als Hauptschadursache wurde jedoch eine Wurzelfäule durch den Kiefern-Wurzelschwamm (*Heterobasidion annosum* s. str.) festgestellt. Letztere kann in diesem Fall als einer der Hauptfaktoren der Devitalisierung der Kiefern und somit u. a. als auslösender Faktor für das *Diplodia*-Triebsterben gewertet werden.

Im Frühsommer 2014 verstärkt auftretende Vitalitätsverluste in Kiefern-Althölzern des östlichen Nordwestdeutschlands ließen sich jedoch teilweise nicht auf das *Diplodia*-Triebsterben zurück führen.

Literatur

LANGER, G., U. BRESSEM, M. HABERMANN 2011: Diplodia-Triebsterben der Kiefer und endophytischer Nachweis des Erregers *Sphaeropsis sapinea*. AFZ/Der Wald, 66 (11), 28-31.

15-6 - Neue Komplexschäden an Buche führen zu erheblicher Bruchgefahr

Novel damage complex in beech give rise to substantial danger of breakage

Mathias Niesar, Rolf Kehr², Adrian Danescu³, Norbert Geisthoff, Johannes Kuhlmann, Johannes Landwehrmann⁴, Markus Uhr⁴

Schwerpunktaufgabe Waldschutzmanagement (WSM) Wald und Holz NRW

²HAWK Göttingen

³FVA Freiburg, Abt. Waldwachstum,

⁴Wald und Holz NRW, RFA Ostwestfalen Lippe,

Anfangs 2013 wurden erstmals in Nordrhein-Westfalen an südlich exponierten, steilen bis schroffen Hängen des Wesertales in Vlotho Uffeln erhebliche Schäden in Kronen von gedrängt stehenden Buchenalthölzern festgestellt. Am Boden lagen abgebrochene, morsche, teils beinstarke Äste mit vertrocknetem Laub. Neben den Buchen mit degenerierten Kronen waren mehr als die Hälfte der Bäume abgestorben oder auf halber Höhe abgebrochen. Da unmittelbar unterhalb der Bestände eine Landstraße und eine Bahnlinie entlangführen, musste der Bestand aus Gründen der Verkehrssicherungspflicht gänzlich abgetrieben werden.

Neben erheblichen Durchforstungsrückständen und der damit einhergehenden starken intra- und teils interspezifische Konkurrenz führten sehr wahrscheinlich vor allem die Niederschlagsdefizite in Verbindung mit den aus hohen Temperaturen herrührenden Verdunstungsanreizen des letzten Jahrzehntes zu erheblichen Wasserdefiziten in den Oberkronen. Verschärfend dürfte sich auch die Abfolge mehrerer Mastjahre ab 2009 ausgewirkt haben. Es konnte gezeigt werden, dass in 2009, 2010 und 2011 diese multiple Belastung zu letalen Kambiumnekrosen in den Kronen mit einer anschließenden rasch verlaufenden Moderfäule des Holzes durch die Pfennig-Kohlenkruste (*Biscogniauxia nummularia*), welche in der Buchenrinde normalerweise endophytisch und symptomlos vorkommt, führte. Ferner deuten die Untersuchungsbefunde aus einer Buche in Vlotho darauf hin, dass nahezu zeitgleich oder unmittelbar anschließend „Kleine Buchenborkenkäfer“ (*Taphrorychus bicolor*) die betroffenen Rindenareale besiedelten, worauf die dort im Vergleich zu „pilzfreien“ Bereichen gefundene hohe Zahl von Borkenkäferlöchern hindeutete. Da auch außerhalb erkrankter Rindenabschnitte Borkenkäfer vorkamen, kann ferner angenommen werden, dass diese als Überträger der Erkrankung nicht in Frage kommen, da hier die Rinden-/Kambiumnekrosen nicht auftraten. Die Lokalisation der Buchenprachtkäfer (*Agrilus viridis*) außerhalb erkrankter Rindenareale zeigt, wie beim Borkenkäfer, auch bei diesem Insekt dessen sekundären Charakter auf. Weiterhin deutet die Abnahme der Borkenkäferdichten von der Oberkrone abwärts zum mittleren Stammbereich, das massive Vorkommen der Kohlenkruste in den Kronen

und die abnehmende Abundanz des flächigen Eckenscheibchens stammabwärts ebenso darauf hin, dass sich die ersten Schäden als Pilzerkrankungen in der Rinde und im Holz der Oberkronen manifestierten. Das Vorkommen der Sekundärschädlinge ist allerdings als ein wichtiger verschärfender Aspekt für die Komplexerkrankung zu werten, da hierdurch auch vom Pilz verschonte Rindenareale erheblich geschädigt werden. Dies bestätigen Untersuchungen in Süddeutschland, welche nach dem Trockenjahr 2003 an geschwächten Buchen durchgeführt wurden.

Literatur

Niesar, M., Kehr, R., Danescu, A., Geisthoff, N., Kuhlmann, J., Landwehrmann, J., Uhr, M., 2014: Neue Komplexschäden an Buche führen zu erheblicher Bruchgefahr; AFZ-Der Wald, 15/2014 S. 33-37.